

学校编码: 10384

分类号_____密级____

学号: 21720061152209

UDC _____

廈門大學

硕 士 学 位 论 文

改良多重实时荧光 PCR 技术定量检测 DNA 甲基化
Quantitative methylation analysis using the multiplex
real-time PCR with Homo-Tag Assisted Non-Dimer
system (HANDs-qMSP)

陈晓云

指导教师姓名: 李 庆 阁 教授

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2 0 0 9 年 0 7 月

论文答辩时间: 2 0 0 9 年 0 8 月

学位授予日期: 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 8 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

DNA 甲基化作为表观遗传学的一种,在维持胚胎发育、基因印记、正常细胞功能以及人类疾病发生中起着重要作用。检测 DNA 甲基化对疾病特别是肿瘤进行早期诊断、预后分析、合理用药等有重要的临床意义。因此快速准确、操作简便、成本低廉的分析技术是甲基化研究及临床检测所必需的。

本文综合比较了不同的 DNA 甲基化检测技术的优缺点后以及在临床检测的可行性,提出了改良多重实时荧光定量 PCR 技术(quantitative methylation specific PCR with Homo-Tag Assisted Non-Dimer system, HANDs-qMSP),并利用该技术检测 64 份大肠癌标本及其正常对照的 CpG 岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP),包括 *RUNX3*、*APC*、*hMLH1*、*Vim-29* 及 *Vim-50*,利用 HANDs-qMSP 技术对 64 份大肠癌组织及 64 份与之对应正常对照进行临床评估,结果显示,CIMP 中至少有一个基因发生甲基化的概率为 85.94% (55/64),其中 *RUNX3*、*APC*、*hMLH1*、*Vim-29* 及 *Vim-50* 的甲基化阳性率分别为 7.81% (5/64)、15.63% (10/64)、29.69% (19/64)、65.63% (42/64)、54.69% (35/64),特异性分别为 100.00% (64/64)、98.44% (63/64)、96.88% (62/64)、90.62%(58/64)、83.74% (54/64)。与普通多重实时荧光定量 PCR 方法和传统的基于 MethyLight 发展起来的技术相比,HANDs-qMSP 技术具有以下几个优点:

(1) HANDs-qMSP 技术设置了一份 98%质控管,该质控管不仅可以作为 100%阳性对照,还可作为亚硫酸盐转化效率为 98%的指标,用于指示标本亚硫酸盐转化效率的高低,从而有效避免由亚硫酸盐转化效率太低所导致的假阴性结果。

(2) HANDs-qMSP 技术采用了同源加尾(Homo-Tag Assisted Non-Dimer system, HAND)系统,HAND 系统能有效地抑制引物二聚体的产生,减小多重 PCR 体系中各基因间扩增效率的差异,提高相对定量的精确度。本论文所建立的 HANDs-qMSP 体系最低可检测到 10pg/反应,且能精确定量至 0.01%。同时 HANDs-qMSP 是多重 PCR 体系,在同一反应管中可同时检测分析多个基因,不仅节约了试剂和标本用量,而且使操作更加简便,减少劳动量。

关键词: DNA 甲基化; 实时荧光 PCR; 质控管

ABSTRACT

DNA methylation plays a critical role in keeping the fetation, gene imprinting, cell development and cancer in normal. Increasingly, changes in DNA methylation patterns are used as molecular markers of early diagnosis, prognosis as well as individualized treatment for cancer. Therefore, there is a need for reliable and easy techniques to detect and measure DNA methylation in research and routine diagnostics.

We have established a modified quantitative analysis of methylated alleles (quantitative methylation specific PCR with Homo-Tag Assisted Non-Dimer system, HANDs-qMSP) based on multiplex real-time PCR (MethyLight). The CIMP (CpG island methylator phenotype, CIMP), including *RUNX3*, *APC*, *hMLH1*, *Vim-29* and *Vim-50*, from 64 colorectal cancer tissue and the corresponding normal tissue were test with HANDs-qMSP. The results show that methylation frequency of the *RUNX3*, *APC*, *hMLH1*, *Vim-29* and *Vim-50* were 7.81% (5/64), 15.63% (10/64), 29.69% (19/64), 65.63% (42/64), 54.69% (35/64) respectively. The specificities of *RUNX3*, *APC*, *hMLH1*, *Vim-29* and *Vim-50* are 100.00% (64/64), 98.44% (63/64), 96.88% (62/64), 90.62% (58/64) and 83.74% (54/64). Compared to normal multiplex PCR, HANDs-qMSP has two advantages as follow:

(1) 98% cutoff tube will be regarded as the calibrator for relative quantification. Meanwhile it will availably correct the false negative results due to it can check the efficiency of bisulfite treatment.

(2) The HAND system can effectively restraint primer dimer and reduce PCR bia between different genes, this improvement not only contributes to precise quantitative accuracy of HANDs-qMSP whose quantification base line can reach 0.01%, but also cut down the labours and expense of experiment.

Keyword: DNA methylation; real-time PCR; cutoff tube

目 录

摘 要	i
ABSTRACT	ii
目 录	iii
CONTENTS	iv
第一章 绪论	1
§ 1.1 DNA 甲基化的概述	1
§ 1.1.1 DNA 甲基化和 CpG 岛	1
§ 1.1.2 DNA 甲基化与基因关系	2
§ 1.1.3 DNA 甲基化与疾病	3
§ 1.1.4 DNA 甲基化在肿瘤临床诊断中的应用	5
§ 1.2 DNA 甲基化的检测现状	9
§ 1.2.1 基于甲基化特异结合蛋白或抗体法的方法	9
§ 1.2.2 甲基化敏感限制性内切酶（MSREs）法	11
§ 1.2.3 亚硫酸盐转化的方法	11
§ 1.3 大肠癌早期诊断	14
§ 1.3.1 大便潜血试验是最基本的检测方法	15
§ 1.3.2 内镜是发现及诊断早期大肠癌的重要技术手段	15
§ 1.3.3 生物标志物检测是一条新的途径	15
§ 1.4 大肠癌相关基因的甲基化	16
§ 1.5 本论文研究内容	18
第二章 材料与方法	19
§ 2.1 细胞系及标本来源	19
§ 2.2 试验方法	19
§ 2.2.1 DNA 模板的制备	19

§ 2.2.2 引物和探针的设计	20
§ 2.2.3 多重 PCR 检测体系的建立	21
§ 2.2.4 HANDs-qMSP 检测体系的建立	21
§ 2.2.5 对照方法 MethyLight 检测体系的建立	25
§ 2.3 数据处理	26
第三章 结果与分析	27
§ 3.1 HANDs-qMSP 的原理	27
§ 3.2 98%质控管的制备方法	30
§ 3.3 HAND 系统的基本原理	30
§ 3.4 引物和探针的设计	31
§ 3.4.1 特异性引物的设计	31
§ 3.4.2 双链置换探针	32
§ 3.5 普通多重实时荧光 PCR 体系的建立	33
§ 3.5.1 普通多重 PCR 体系的优化	33
§ 3.5.2 普通多重 PCR 体系的相对定量结果	35
§ 3.6 HANDs-qMSP 检测体系的建立	37
§ 3.6.1 标签的筛选	37
§ 3.6.2 HAND 系统的优点	37
§ 3.6.3 加尾单重 PCR 体系的优化	38
§ 3.6.4 HANDs-qMSP 体系的优化	40
§ 3.6.5 HANDs-qMSP 体系的灵敏度	44
§ 3.6.6 具有校正能力 HANDs-qMSP 体系的相对定量能力	45
§ 3.6.7 HANDs-qMSP 检测标本的典型结果	46
§ 3.6.8 64 份大肠癌标本及正常对照的检测结果	48
§ 3.7 MethyLight 检测体系	51
§ 3.7.1 MethyLight 体系的优化	51
§ 3.7.2 MethyLight 体系检测标本的典型结果	52
§ 3.7.3 MethyLight 对 64 份大肠癌标本及正常对照的检测结果	53
§ 3.8 讨论	55

§ 3.8.1 98%质控管的作用	55
§ 3.8.2 采用 HAND 系统的优点	55
§ 3.8.3 双链置换探针更适用于多重实时 PCR 体系	57
§ 3.8.4 关于内控基因 <i>DI59</i> 和 <i>ACTB</i>	57
§ 3.8.5 CpG 岛甲基化表型在临床诊断中意义	57
第四章 结论	59
参考文献	61
附录	70
英文缩写索引	76
硕士发表交流论文	78
致 谢	79

CONTENTS

Abstract (In Chinese)	i
ABSTRACT(In English)	ii
Contents (In Chinese)	iii
Contents (In English)	iv
Chapter I Introduction	1
§ 1.1 Introduction of DNA methylation	1
§ 1.1.1 DNA methylation and CpG island.....	1
§ 1.1.2 The effects of DNA methylation on DNA fuction	2
§ 1.1.3 DNA methylation in disease	3
§ 1.1.4 The application of DNA Methylation to dignosis cancer	5
§ 1.2 The status quo of the DNA methylaiton detection	9
§ 1.2.1 The methods based on antibody.....	9
§ 1.2.2 The methods based on MSREs	11
§ 1.2.3 The methods based on bisulfite treatmen	11
§ 1.3 The methods used for early diagnosis of colorectal cancer	14
§ 1.3.1 Fecal occult blood tes	15
§ 1.3.2 Endoscope.....	15
§ 1.3.3 Biology Marker.....	15
§ 1.4 The methylation of genes relating with colorectal cancer	16
§ 1.5 Research contents of this dissertation	18
Chapter II Materials and Methods	19
§ 2.1The materials	19
§ 2.2 The methods	19
§ 2.2.1 Praparation of DNA	19

§ 2.2.2 The design of primers and probes.....	20
§ 2.2.3 The optimizaition of multiplex real-time PCR	21
§ 2.2.4 The optimization of HANDs-qMSP	21
§ 2.2.5 The optimization of MethyLight.....	25
§ 2.3 Data Analysis	26
Chapter III Results and Analysis	27
§ 3.1 The principle of HANDs-qMSP	27
§ 3.2 Preparation of 98% cutoff tube	30
§ 3.3 The Principle of HAND system.....	30
§ 3.4 The design of primers and probs	31
§ 3.4.1 The design of special primers	31
§ 3.4.2 The characteristics of displacing probe	32
§ 3.5 Multiplex real-time PCR	33
§ 3.5.1 The optimization of multiplex real-time PCR	33
§ 3.5.2The relative quantification results of multiplex real-time PCR.....	35
§ 3.6 HANDs-qMSP.....	37
§ 3.6.1 Selection of tags.....	37
§ 3.6.2 The virtue of HAND system.....	37
§ 3.6.3 Optimization of single PCR with HAND system	38
§ 3.6.4 Optimization of HANDs-qMSP	40
§ 3.6.5 Sensitivity test result of HANDs-qMSP	44
§ 3.6.6 The quantitaitve accuracy of HANDs-qMSP	45
§ 3.6.7 The typical results of cases	46
§ 3.6.8 The dignosis results of 64 cases by HANDs-qMSP	48
§ 3.7 MethyLight	51
§ 3.7.1 Optimization of MethyLight.....	51
§ 3.7.2 The typical results of cases with MethyLight.....	52
§ 3.7.3 The dignosis results of 64 cases by MethyLight.....	53
§ 3.8 Discussion.....	55

§ 3.8.1 98%质控管的作用	55
§ 3. 8. 2 The advantage of HAND system	55
§ 3.8.3 Displacing probe be suitable for multiplex PCR	57
§ 3.8.4 About internal control ACTB and D159	57
§ 3.8.5 The application of CIMP	57
Chapter IV Conclusion	59
Reference	61
Index of abbreviation in English	70
Appendix: Publication	76
Appendix: Publication	78
Acknowledgement	79

第一章 绪论

§ 1.1 DNA 甲基化的概述

§ 1.1.1 DNA 甲基化和 CpG 岛

DNA 甲基化是指 DNA 甲基转移酶 (DNA methyl-transferase, DNMT) 催化甲基供体 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosylmethionine, SAM), 在胞嘧啶的第五位碳原子上加一甲基基团变成 5-甲基化胞嘧啶 (5-mC) 的化学修饰过程^[1,2]。

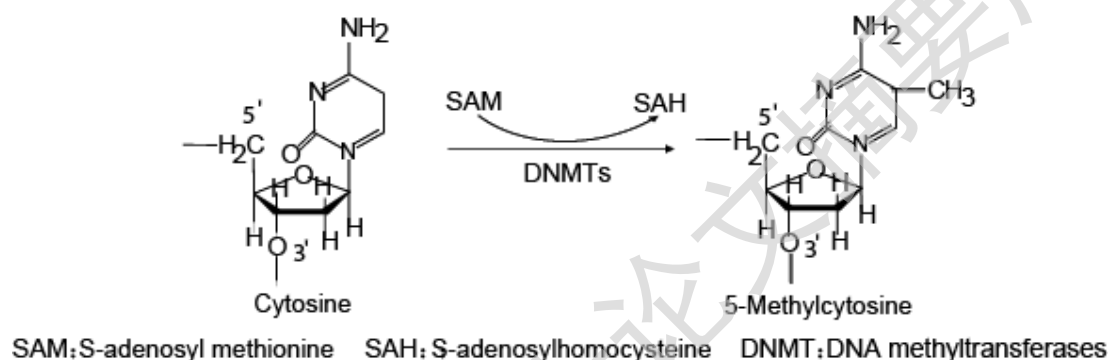


Fig. 1-1: Cytosine methylation. The DNA methyltransferases catalyze the transfer of the methyl group from S-adenosylmethionine to cytosine, producing 5-methylcytosine and S-adenosylhomocysteine.

在哺乳动物中, DNA 甲基化主要发生在 CpG 二核苷酸上, 总 CpG 含量占全基因组碱基数的 5.0%~10%, 其中甲基化 CpG 仅占全基因组碱基数的 1.0%^[2,5,7]。CpG 以两种形式存在, 一种分散于 DNA 高度和中度重复序列中, 如 Alu 序列; 另一种 CpG 结构高度聚集的 CpG 岛, 所谓 CpG 岛是指一段长为 0.5~2.0 kb, 且 CpG 含量大于 50.0% 的核苷酸序列^[3]。CpG 岛位于基因的 5' 端启动子, 也可以延伸至基因的外显子区^[2,4,5], 大约 50% 的基因启动子与 CpG 岛有关系^[6]。在正常组织里, 70%~90% 散在的 CpG 是被甲基修饰的, CpG 岛中的 CpG 通常是处于非甲基化状态, 除了在一些特殊情况下会发生甲基化, 例如缺失表达的组织特异性基因的启动子、印记失活的常染色体等位基因的启动子和女性失活的 X 染色体上各基因的启动子^[8-10]。DNA 甲基化作为最早发现的表观遗传学之一, 在维持正常细胞功能、遗传印记、胚胎发育以及人类肿瘤发生中起着重要作用。

§ 1.1.2 DNA 甲基化与基因关系

§ 1.1.2.1 DNA 甲基化与基因突变

DNA 甲基化引起基因突变的机制主要是由于 DNMT 催化反应形成。DNMT 可以加快胞嘧啶 (C) 和 5-mC 脱氨, 封闭尿嘧啶 (U) 的修复, 并且使 U→T 改变, 故 DNMT 促使 CpG 序列的 C→T 突变。抑癌基因 p53 就是一个典型的例证, 50% 实体瘤病人出现 p53 基因突变, 其中 24% 的突变是 CpG 甲基化后脱氨引起的 C→T 突变^[11]。

§ 1.1.2.2 DNA 甲基化与基因沉默

DNA 甲基化是后天基因沉默的一种主要决定性因素, 目前甲基化影响基因表达的机制可分为两种模型: 一种是 DNA 甲基化能通过阻断转录激活物结合到相关 DNA 序列上直接抑制转录; 一种是甲基化通过与甲基 CpG 序列结合蛋白 (methyl CG-binding protein, BMD) 协同作用间接抑制表达^[12], 其具体机制如下:

(1) 直接抑制。DNA 甲基化直接改变 DNA 分子的空间构象, 使其由常规的 B 型转变成 Z 型, Z-DNA 结构收缩, 螺旋加深, 甲基化 CpG 伸入 DNA 双螺旋的大沟。DNA 的大沟是众多蛋白质因子与 DNA 结合的部位。CpG 的甲基化影响了蛋白质因子与 DNA 间的相互作用, 干扰了特异转录因子与 DNA 识别的启动子部位的结合, 从而阻碍相关基因的转录。例如转录因子 AP2、CTCF、C2Myc/Myn、E2F2 和 NF2^κB 能识别含有 CpG 岛的序列并对 DNA 甲基化十分敏感^[13]。

(2) 间接抑制。基因 5' 端调控序列上甲基化后与核 BMD 形成复合物, 该复合物的作用又可分为以下两方面: 一方面该复合物阻止转录因子与基因形成转录复合物; 另一方面, 该复合物又可与位于 BMD 蛋白上的组蛋白脱乙酰基酶 (HDAC1 和 HDAC2) 协同作用, 增强 HDACs 乙酰化的效率, 从而导致组蛋白所带正电荷增加, 带正电荷的组蛋白与带负电荷的 DNA 相互作用造成染色质结构压缩, 进一步限制转录因子的结合从而抑制转录的起始。甲基化对转录的抑制强度与 MeCP1 结合 DNA 的能力成正相关, 甲基化 CpG 的密度和启动子强度之间的平衡决定了该启动子是否具有转录活性^[12]。

§ 1.1.3 DNA 甲基化与疾病

§ 1.1.3.1 甲基化与基因印迹 (genomic imprinting) 失常

基因印迹是近年来发现的一种不遵从孟德尔定律的依靠单亲传递某些遗传学性状的现象,指配子或合子发生期间,来自亲本的等位基因或染色体在发育过程中产生专一性的加工修饰,从而导致后代体细胞中两个亲本来源的等位基因有不同的表达活性。印迹基因的特征是一对等位基因甲基化程度不同,几乎所有的印迹基因的部分序列在两个不同亲本来源的等位基因中仅有一方是甲基化,这些序列被称为“差异甲基化区域”(Differentially Methylated Regions, DMRs)。DMR 控制基因表达的最好证据是来自于 *Igf2* 和 *H19* 基因的研究。在正常个体中, *Igf2* 为父源表达,而 *H19* 为母源表达,且在 *H19* 上游有一个父源甲基化 DMR,该 DMR 起到绝缘子的作用,阻止母源 *Igf2* 与增强子的结合,从而抑制 *Igf2* 基因表达,当该 DMR 去甲基化则诱导母源 *Igf2* 表达^[15]。

DNA 甲基化影响胚胎正常发育和等位基因的选择性表达,特别是在早期胚胎发育过程中,错误甲基化模式会导致许多疾病。位于 15q11-q13 上的 SNRNP 基因及相邻的印迹基因发生甲基化异常导致 Prader-Willi/Angelman 综合征;11 号染色体上的 KCNQ1 基因 CpG 岛去甲基化引起 Beckwith-Wiedemann 综合征^[16];启动子去甲基化引起 Xq27 上的 FMR-1 基因过表达是脆性 X 染色体综合征的重要原因^[17]。

§ 1.1.3.2 甲基化与免疫紊乱

DNA 甲基化对维持 T 细胞的功能起着至关重要,DNA 甲基化状态的改变可以影响许多基因的表达,包括一些与黏附因子和细胞因子表达相关的基因,导致 T 细胞的自身反应性发生改变^[18],从而诱发自身免疫性疾病。

当各种原因引起 T 细胞 DNA 低甲基化后,对自身免疫有潜在作用的基因表达增加,通过多个环节导致自身免疫性疾病的发生。最近研究发现,T 细胞 B 细胞共刺激因子 (CD40LG)、整合素 α L 型 (CD11a)、穿孔素 (perforin)、肿瘤坏死因子 II 型跨膜蛋白 (CD70) 及 TCR 信号转导因子 (IgE FcR r1) 等基因调控序列低甲基化,导致细胞 ERK 信号转导途径障碍,继而出现甲基化敏感基因过表达,如白细胞功能相关因子 (LFA1),LFA1 可以引起狼疮样自身免疫反应^[19],CD40LG 基因的脱甲基作用激活原已失活的 X 染色体,是女性易患 SLE 的关键

所在^[20]。T 细胞 CD70 的表达促使 T 细胞反应性退化并最终破坏其耐受机制，导致自身反应性改变^[21]，这是诱发风湿关节炎的关键因素之一。

高甲基化也在自身免疫系统中发挥着极其重要的作用。有研究发现，强直性脊柱炎（Ankylosing Spondylitis, SSs）患者成纤维细胞胶原合成增加与胶原抑制基因 FL II 表达失控有关，FL II 启动子区 CpG 岛大量的甲基化在 SSs 患者成纤维细胞和皮肤活检标本中被证实^[22]。表观遗传机制可能对 SSs 纤维变性有间接作用，信号转导导致 SSs 患者纤维变性表型的发生积聚在 FL II 的 DNA 甲基化和组蛋白的去乙酰化。深入研究甲基化在自身免疫性疾病中的作用，有利于阐明自身免疫性疾病的发病机制，从而为治疗这些疾病提供更为有效的方法。

§ 1.1.3.2 甲基化与肿瘤

大量研究结果显示，DNA 甲基化状态的改变是肿瘤的基本特征之一，表现为全基因组低甲基化和局部基因高甲基化^[8,9,23]（图 1-2）。全基因组低甲基化在肿瘤中的作用可分为以下几个方面：（1）单拷贝基因的低甲基化诱导一些原癌基因（cellular oncogenes）异常表达，提高癌细胞对不断变化的肿瘤组织微环境的适应能力，促进癌细胞产生耐药性^[12]；（2）中拷贝数序列去甲基化后会活化逆转录转座子及内源性逆转录病毒元件，有利外源致癌病毒入侵体内，降低细胞自身的抗癌能力；（3）高拷贝数重复序列（例如微卫星 DNA 序列、LINE-1 序列等）的甲基化水平降低则影响染色质的重构及稳定性，主要反映在组蛋白修饰酶的许多变化中及其他染色质调节器中^[24,25]，其机制到目前为止还不十分明确，可能是全基因组低甲基化导致 SWI/SNF 复合物中 SNF 家族蛋白异常有关，而 SWI/SNF 类介导染色质重塑的信号转导起着重要的作用^[24]。

在整体低甲基化的水平下，某些抑癌基因和错配修复基因则发生高甲基化，导致基因沉默，例如修复基因 *hMLH1*, *MGMT1*，抑癌基因 *APC*, *CDKN2A* 等^[26-28]。现在许多实验证实，单个关键基因的甲基化状态的改变并不对肿瘤的发生、发展起决定作用，通常肿瘤的发生由多个基因启动子甲基化（CpG island methylator phenotype, CIMP）共同作用决定的^[29]。

饮食、遗传基因多态性和环境中的化学物质的作用，均可导致 DNA 的甲基化状态改变。饮食中的蛋氨酸和叶酸是甲基基团的供体。如果饮食中缺乏叶酸，蛋氨酸或硒元素，就会改变基因的甲基化状态，提高肿瘤的发病率，而适量的叶

酸供给可能预防癌症的发生^[30-32]。职业化学品、化石燃料排放、水污染和吸烟等环境污染，释放出有害物质如砷（砒霜）和多环芳烃（苯并芘）等，均可增加基因不稳定性和改变细胞物质代谢。每个人对环境和饮食因素的敏感性可因先天遗传的不同而不同。因此环境因素和个体遗传特性共同作用，决定了潜在的表观遗传疾病的危险性。

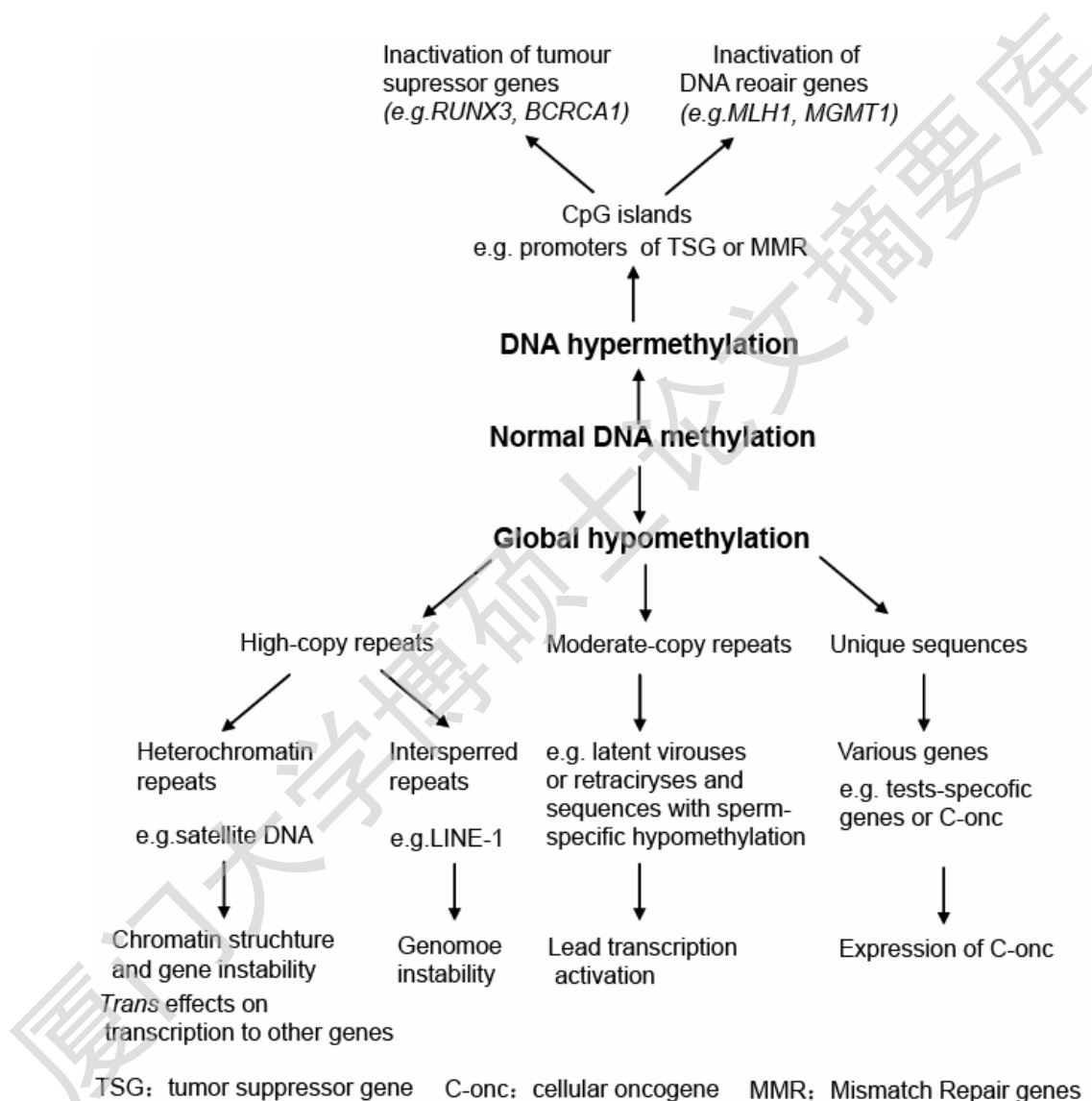


Fig. 1-2: Frequent target DNA sequences for cancer associated hypermethylation or hypomethylation

§ 1.1.4 DNA 甲基化在肿瘤临床诊断中的应用

§ 1.1.4.1 肿瘤的早期诊断和肿瘤的分子分型

现在肿瘤学认为，DNA 甲基化状态的改变往往出现于细胞恶性增生早期，

并伴随恶性肿瘤的发生、发展而变化,因此,DNA 甲基化为生物学标志物在肿瘤早期诊断中具有重大的应用价值。同时,DNA 甲基化作为生物学标记有以下三个特点:(1)多数 CpG 岛在肿瘤中呈高频甲基化状态,而相应的正常组织很少发生甲基化;(2)基因突变可在整个基因的许多位置上出现,DNA 甲基化通常发生在基因的特定区域,且与该基因失表达相关;(3)近年来,随着检测技术的不断进步,肿瘤 DNA 甲基化分子标记物除了能在肿瘤组织中检出外,在血浆和体液(如尿液、粪便、痰、唾液、支气管肺泡灌洗液、乳房抽吸液等)中同样也能检测到,极大地扩展了研究资源,因而其在肿瘤临床诊断方面的巨大潜力得到越来越多的重视^[33]。瑞士科学家研究发现,在 27 例 Barrett's 食管患者中,*APC*、*TIMP3*=*TERT* 甲基化检出率分别为 100%、91%、92%,而未发生癌变者上述基因甲基化率仅为 36%、23%、17%,说明其异常甲基化与食道癌的发生关系密切^[34]。又如通过检测 *p15*、*MGMT*、*hMLH1* 异常甲基化可判断骨髓增生异常综合征、黏膜白斑、结肠息肉是否存在恶变的潜能等^[35-37]。检测血清 *hMLH1* 启动子甲基化,可早期诊断微卫星体不稳定型结肠癌^[38]。

同时肿瘤的发生往往是由 CpG 岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)引起的,每种肿瘤又都有其自身一套异常甲基化基因,因而根据肿瘤特异的甲基化模式将其进行分型是有可能的(表 1-1)。

Table 1-1: Methylated genes by disease type that lesions have a high predioisition

Disease ^a	Methylated Genes
MDS	<i>P15^{INK4B}</i> , <i>CDH1</i> , <i>HIC1</i> , <i>FHIT</i> , <i>RIL</i> , <i>SOCS</i> , <i>RASSF1A</i> , <i>calcitonin</i>
AML	<i>RIL</i> , <i>SFRP</i> , <i>NOR1</i> , <i>CDH13</i> , <i>p15</i> , <i>NPM2</i> , <i>OLIG2</i> , <i>PGR</i> , <i>HIN1</i> , <i>SLC26A4</i> , <i>ESR1</i> , <i>IGSF4</i> , <i>p73</i> , <i>SHP1</i>
ALL	<i>Hck</i> , <i>PARK2</i> , <i>PACRG</i> , <i>SHP1</i>
CML	<i>PARK2</i> , <i>PACRG</i> , <i>SOCS1</i> , <i>p16</i> , <i>p14</i> , <i>CDH-13</i> , <i>JunB</i> , <i>SHP1</i> , <i>ABL1</i> , <i>p15</i> , <i>HOXA</i>
CLL	<i>p15</i> , <i>PTPRO</i> , <i>DAPK1</i> , <i>ARLTS1</i> , <i>HoxA4</i> , <i>SFRP</i> , <i>TWIST2</i> , <i>GRM7</i> , <i>hTERT</i>
Ovarian Cancer	<i>BRCA1</i> , <i>ARLTS1</i> , <i>HOXA9</i> , <i>HOXB5</i> , <i>SCGB3A1</i> , <i>CRABP1</i> , <i>hMLH1</i> , <i>ER</i> , <i>RASSF1A</i> , <i>RAR beta</i> , <i>E-cadherin</i> , <i>H-cadherin</i> , <i>APC</i> , <i>GSTP1</i> , <i>MGMT</i>
NSCLC	<i>ARLTS1</i> , <i>RASSF2</i> , <i>p16</i> , <i>H-cadherin</i> , <i>RASSF1A</i> , <i>APC</i> , <i>MGMT</i> , <i>ASC</i> , <i>DAPK</i>
Colorectal Cancer	<i>p16</i> , <i>RIL</i> , <i>RASSF2</i> , <i>p53</i> , <i>RAR</i> , <i>cyclin A1</i> , <i>CDH-13</i> , <i>DNMT</i> , <i>hMLH1</i> , <i>p14</i> , <i>APC</i> , <i>MGMT</i>

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库